

Betrachtungen über den Zustand nativer Dextrane in Lösung unter Annahme einer Helix-Konformation**

Von

K. H. Ebert*

Aus dem Institut für Technische Chemie der Technischen Hochschule München

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 28. März 1967)

Lösungen nativer Dextrane sind schon in sehr geringer Konzentration getrübt und zeigen ein anomales Viskositätsverhalten. Das weist auf das Vorliegen großer strukturierter Assoziateteilchen hin. Mit der Annahme einer Helixstruktur für die native Dextranspirale kann man die Bildung solcher Assoziateteilchen deuten. An Hand modellmäßiger Betrachtungen wird versucht, die makroskopischen Eigenschaften auf das Vorliegen bestimmter Konformationen zurückzuführen.

Allgemeines

Eine makromolekulare Lösung zu definieren, ist nicht so einfach. Falls man lediglich in Lösung und Bodenkörper unterscheiden will — wie das hier geschehen soll —, muß man zu den Lösungen die Suspensionen und zu den Bodenkörpern die Gele zählen. Damit sich ein hochpolymerer Stoff löst, müssen die Wechselwirkungen zwischen den Makromolekülen und den Lösungsmittelmolekülen größer sein als zwischen den Makromolekülen selbst. Nur dann können sich isolierte Moleküle in Lösung ausbilden. Sind die Wechselwirkungen zwischen den Makromolekülen größer, bilden sich Assoziateteilchen, die zur Gelbildung führen können. Es ist im allgemeinen nicht möglich, aus der chemischen Struktur allein auf die Löslichkeit

* Herrn Prof. *Wessely* zum 70. Geburtstag herzlich zugeeignet.

** Eine Reihe von experimentellen Ergebnissen, die in dieser Arbeit mitgeteilt werden, entstammen früheren Arbeiten; eine Zusammenfassung davon befindet sich an anderer Stelle¹.

¹ *K. H. Ebert*, *Naturwiss.* **53**, 32 (1966).

eines hochmolekularen Stoffes zu schließen, insbesondere auch deshalb, weil oft für diese Eigenschaften auch die Konformation der Moleküle in Lösung eine Rolle spielt.

Die Löslichkeit von Dextranen

Besondere Verhältnisse liegen bei Lösungen der Polyglucose Dextran vor, einem Molekül, das flexibler gebaut ist als die verwandten Polyglucosen Glykogen oder Cellulose, da die Glucose-Kettenglieder in 1,6-Stellung miteinander verknüpft sind, d. h., die einzelnen Saccharidringe über $-\text{CH}_2-\text{O}$ -Brücken statt $-\text{O}$ -Brücken verkettet sind. Die Löslichkeit von verschiedenen Dextranen in Wasser ist sehr unterschiedlich. Native Dextrane, wie sie aus einer Saccharoselösung von dem Enzym Dextran-saccharase aus *Leuconostoc mesenteroides* B 512 F gebildet werden, ergeben schon in kleiner Konzentration ($< 0,1\%$) stark trübe Lösungen, die über lange Zeiträume stabil sind. Solche Lösungen können in beachtlichen Konzentrationen hergestellt werden, ohne daß sich ein Bodenkörper ausbildet. Durch Säure- oder Ultraschallbehandlung verschwindet die Trübung vollständig. So behandelte Dextrane sind sehr gut in Wasser löslich, selbst wenn ihre Molekulargewichte beträchtliche Werte besitzen. So können z. B. 50proz. Lösungen von Dextran mit einem mittleren Molekulargewicht von 200 000 hergestellt werden, die völlig klar sind. Native Dextrane haben höchstens ein um den Faktor 3 größeres Molekulargewicht². Der Unterschied in der Löslichkeit ist mit der Differenz der Molekulargewichte sicher nicht allein erklärbar.

Die Trübe und die Viskosität von nativen Dextranlösungen

Schon früher fiel uns auf, daß die Stärke der Trübung von nativen Dextranlösungen sehr unterschiedlich war. Manche Enzympräparationen erzeugten außerordentlich trübe Lösungen — gelegentlich kam es vor, daß in relativ verdünnten Lösungen (etwa 2%) sogar Niederschläge auftraten —, andere Enzympräparationen wieder lieferten weit weniger trübe Reaktionslösungen. Verdünnt man eine trübe Lösung und verfolgt die Transmission in einem Photometer, so erhält man keine lineare Abhängigkeit wie im Falle kolloidaler Lösungen (Suspensionen). Vielmehr nimmt die Transmission mit der Konzentration erheblich stärker als linear zu. Das weist auf das Vorliegen eines Assoziationsgleichgewichts, das durch die allgemeine Gleichung:

$$n \text{ Dextran} \rightleftharpoons (\text{Dextran})_n \quad (1)$$

formuliert werden kann, hin.

² K. H. Ebert, G. Schenk, G. Rupperecht, M. Brosche, Hsu Wei Wen und D. Heinicke, Makromolek. Chem. **96**, 206 (1966).

Wenn man die Viskosität von Dextranlösungen untersucht, erhält man ebenfalls besondere Ergebnisse. Es gibt Dextranlösungen, die außerordentlich viskos sind und manchmal sogar eine sehr beachtliche Strukturviskosität aufweisen. *Patat* und *Hartmann*³ fanden an bestimmten Dextranlösungen eine ausgeprägte Rheopexie, d. h., daß die Viskosität der Lösung bei Beanspruchung zunimmt. *Patat* und *Burgtorf*⁴ untersuchten die Effekte im Rotationsviskosimeter und konnten an solchen Lösungen eine Abhängigkeit der Viskosität von der Zeit feststellen, die der Funktion einer gedämpften Schwingung ähnelt; der Viskositätsendwert pendelt sich sozusagen ein. Die Temperatur hatte auf die absoluten Viskositätswerte nur einen geringen Einfluß; ebenso wird die Dauer der Schwankungen nur wenig verändert. Die Intensität des Pendelns wird aber durch die Temperaturerhöhung erheblich reduziert. Im allgemeinen sind solche rheopexe Dextranlösungen leichter zu erhalten, wenn man die Enzymreaktion bei niedrigen Temperaturen ablaufen läßt, daher auch die Bezeichnung „Null-Grad-Produkt“ in früheren Publikationen. Jedoch erhielten wir Dextranlösungen mit anomaler Viskosität gelegentlich auch, wenn die Dextrane bei höheren Temperaturen synthetisiert wurden — oder sie waren auch bei 0° C nicht zu erhalten. Auch hier hing das im wesentlichen von der Enzympräparation ab, die wir jedoch nicht zu beeinflussen imstande sind.

Das Verhalten von Dextranen bei der Fällung und Fraktionierung

Bei der Fällung von nativen Dextranen aus wäßrigen Lösungen mit Äthanol haben wir ebenfalls Ergebnisse erhalten, die nicht einfach zu deuten sind. Bei trüben Lösungen fällt bei langsamer Zugabe von Fällungsmittel bei einer bestimmten Konzentration der Großteil der gelösten Substanz auf einmal flockig aus. Nur bei bestimmten Lösungen, wenn Moleküle mit sehr verschiedenen Molekulargewichten in der Lösung enthalten sind, ist eine Fällungsfractionierung überhaupt möglich.

Der sorgfältig ausgefällte flockige Niederschlag löst sich bei Zugabe von Lösungsmittel im allgemeinen rasch wieder auf. Setzt man jedoch überschüssiges Fällungsmittel zu oder entwässert man gefälltes Dextran auf andere Weise, so ist es — wenn überhaupt — nur schwer wieder in Lösung zu bringen. Eingehende Untersuchungen darüber wurden im Zusammenhang mit Versuchen gemacht, Dextrane in der *Baker-Williamschen* Kolonne nach ihrem Molekulargewicht aufzutrennen⁵. Der Erfolg

³ *F. Patat* und *J. Hartmann*, Makromolek. Chem. **18/19**, 422 (1956).

⁴ *F. Patat* und *E. Burgtorf*, Makromolek. Chem. **52**, 125 (1962).

⁵ a) *K. H. Ebert* und *E. Ernst*, Makromolek. Chem. **56**, 88 (1962). b) *K. H. Ebert*, *M. Brosche* und *K. F. Elgert*, Makromolek. Chem. **72**, 191 (1964). c) *M. Schumann*, Dissertation, Techn. Hochschule München 1966.

solcher Versuche, die wir seit längerer Zeit betreiben, war stets in starkem Maße vom Experimentator abhängig. Manchmal erschienen die Fraktionen an der „richtigen Stelle“ und die Lösungen waren ungetrübt. Ein andermal wieder erhielten wir stark trübe Lösungen, die erst bei viel größeren Fällungsmittelgehalten im Eluiermittel erschienen. Dabei war kein echter Zusammenhang zwischen der Trübe der Ausgangslösung, die am Kopf der Kolonne aufgegeben wurde, und dem Erfolg der Fraktionierung festzustellen. Die einzige Abhängigkeit wurde in der Zeitdauer, die die Dextranprobe im Gelzustand im Kopf der Kolonne vom Auftrocknen bis zur Ablösung bei der Fraktionierung verblieb, gefunden^{5c}. Schnelle Fraktionierungen waren deutlich erfolgreicher als langsame, was wir auf Umordnungsvorgänge der Konformation der gefällten Dextrane zurückgeführt haben^{5c}.

Zusammenhänge zwischen Wasserstoffbrücken und Löslichkeit

Die Löslichkeit hängt von den Wechselwirkungsparametern zwischen den Lösungsmittelmolekülen und dem gelösten Stoff ab. Treten die Moleküle des gelösten Stoffes mit den Lösungsmittelmolekülen in stärkere Wechselwirkung als miteinander, so wird eine molekulare Lösung erreicht, d. h., jedes Molekül des gelösten Stoffes ist weitgehend unabhängig, bewirkt durch eine starke Solvathülle, die die Wechselwirkungen der Moleküle des gelösten Stoffes untereinander abschirmt. Für die Wechselwirkung des gelösten Stoffes mit dem Lösungsmittel ist dessen chemische Struktur von ausschlaggebender Bedeutung. So lösen sich in Wasser Verbindungen, die in ihrem Molekül eine bestimmte Anzahl polarer Gruppen wie —OH, —NH oder —SH besitzen. Je größer der Anteil dieser Gruppen im Molekül ist, um so größer ist dessen Löslichkeit in Wasser.

Da Kohlenhydrate einen großen Anteil an OH-Gruppen besitzen, sind sie im allgemeinen in Wasser gut löslich. Das gilt ohne Einschränkung für die niedermolekularen Verbindungen wie Mono- und Disaccharide, die 5 bzw. 4 freie OH-Gruppen am Saccharidring besitzen. Bifunktionell verknüpfte Polysaccharide haben immerhin noch 3 OH-Gruppen im Grundbaustein und es ist zu erwarten, daß sie zumindest noch gut in Wasser löslich sind. Das ist aber nur beschränkt der Fall. Während Glykogen und Inulin in warmem Wasser recht gut löslich sind, nimmt die Löslichkeit in der Kälte stark ab und man erhält gallertige Massen (Stärkekleister). Cellulose ist bekanntlich in Wasser völlig unlöslich. Dazwischen gibt es alle Übergänge in der Substanzreihe, die alle den gleichen Anteil von OH-Gruppen im Molekül besitzen. Diese Erscheinungen kann man nur verstehen, wenn man annimmt, daß in den Polysacchariden die OH-Gruppen durch Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sein können.

Aus der guten Löslichkeit der Monosaccharide folgt, daß eine Wasser-

stoffbrückenbindung benachbarter OH-Gruppen im gleichen Saccharidring nicht zustande kommt. Die Ausbildung der Wasserstoffbrücken bei Polysacchariden kann daher nur zwischen Saccharidkernen des gleichen Moleküls (intramolekular) und zwischen verschiedenen Makromolekülen (intermolekular) stattfinden. Hat sich in einem Molekül ein Maximum an intramolekularen Wasserstoffbrücken gebildet, so wird dieses eine mehr oder weniger geordnete Struktur angenommen haben. Für ein kettenförmiges Molekül ist die einfachste denkbare Struktur, die in sich so flexibel ist, daß alle möglichen Wasserstoffbrücken den $-\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ -Gleichgewichtsabstand gleichzeitig einnehmen können, eine Helix. Bekanntlich wurden an einer Reihe von hochpolymeren Stoffen, vor allem bei Eiweißstoffen, Helixstrukturen nachgewiesen. Bei anderen nimmt man solche Strukturen an⁶. Die erste Helix-Struktur überhaupt wurde für den Jod—Stärke-Komplex angenommen. Darin sollen sich die Stärkekettens in Form einer Wendel um die Jodmoleküle herumlegen⁷. Für die Cellulose wurden zwei Strukturen vorgeschlagen⁸, die beide langgestreckte Ketten zur Grundlage haben und die in einem Fall durch eine und im anderen durch zwei intermolekulare Wasserstoffbrücken pro Saccharidkern miteinander verknüpft sind. Die restlichen OH-Gruppen sind durch intramolekulare Wasserstoffbrücken abgesättigt. Diese Modelle konnten noch nicht endgültig bestätigt werden⁹, doch wären mit solch starren Strukturen die Eigenschaften der Cellulose gut erklärbar.

Die unterschiedlichen Eigenschaften der verschiedenen Dextrane in Lösung, die oben näher beschrieben wurden, sind sicherlich auf Unterschiede in der Anzahl der Wasserstoffbrücken im Molekül begründet, die zu verschiedenen Konformationen der Makromoleküle in Lösung führen können. Nach dem oben Gesagten wird das native Dextran die höhere Ordnung haben und daher auch die größere Zahl von Wasserstoffbrücken. Das klar lösliche Dextran dagegen wird in einer ungeordneten Struktur vorliegen und eine größere Anzahl von freien OH-Gruppen besitzen, die mit den Lösungsmittelmolekülen in Wechselwirkung treten können und das Molekül — je nach Konzentration mehr oder weniger — isoliert in Lösung bringen.

Die Dextranhelix und übergeordnete Strukturen

Wie einleitend erwähnt, ist Dextran eine Polyglucose, in der die Glucosegrundbausteine in 1,6-Stellung bifunktionell verknüpft sind. Der

⁶ T. M. Birshtein und O. B. Ptitsyn, Conformation of Macromolecules (High Polymers Vol. XXII), Kap. 9 und 10, Interscience Publ. New York 1966.

⁷ Siehe H. Morawetz, Macromolecules in Solution (High Polymers, Vol. XXI), S. 378f., Interscience Publ. New York 1965.

⁸ D. W. Jones, J. Polymer Sci. **32**, 371 (1958).

⁹ D. W. Jones, J. Polymer Sci. **42**, 173 (1960).

Verzweigungsgrad ist relativ gering und übersteigt nicht den Wert von 1%, d. h., daß jedes 100ste Molekül trifunktionell verknüpft ist und so der Ansatzpunkt einer Verzweigung ist¹⁰. Die Seitenkette selbst kann von verschiedener Länge sein. Über die Bildung solcher Verzweigungen sind konkrete Vorstellungen im Zusammenhang mit dem Aufbaumechanismus entwickelt worden¹¹, jedoch ist bisher nicht eindeutig bekannt, an welcher OH-Gruppe des Saccharidkerns die Seitenkette gebunden ist. Mit Hilfe einer komplexbildenden Reaktion konnte gezeigt werden, daß sicher ein Teil der Verzweigungen über das O-Atom des C-Atoms 3 der Saccharidkerne verknüpft sind¹⁰. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt *van Oene* aus NMR-Messungen¹². Die Konformation der Saccharidringe ist einheitlich C 1.

Mit modellmäßigen Betrachtungen gelingt es, die so spezifizierten Dextranketten in eine Helixstruktur zu formen, wie sie in Abb. 1 dargestellt ist. In dieser Helix sind 2 Glucosebausteine in einer Windung enthalten; baut man sie aus *Dreiding*-Modellen auf, so sind zwei übereinanderstehende Saccharidringe um etwa 20° gegeneinander verdrillt, was auch im Bild berücksichtigt ist. (Darauf soll jedoch kein zu großer Wert gelegt werden, möglicherweise stehen die Saccharidringe auch direkt übereinander, jedenfalls ist die Verdrillung nicht mehr als 20°.) Die Helix ist stabilisiert durch intramolekulare Wasserstoffbrücken, durch die alle OH-Gruppen

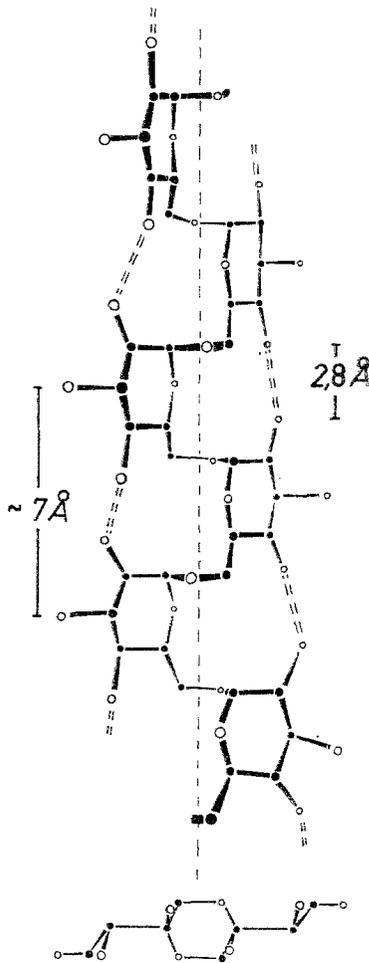


Abb. 1. Modell der Dextran-Helix. (In der Ansicht — oben — ist eine Verdrillung der Saccharidkerne um 20° pro Windung angenommen, das ergibt, daß etwas weniger als zwei Glucosebausteine in einer Windung enthalten sind. Die Wasserstoffbrücken liegen daher schräg gegen die Helixachse. In der Draufsicht — unten — liegen die Saccharidkerne genau übereinander.)

¹⁰ K. H. Ebert und M. Brosche, *Biopolymers*, im Druck.

¹¹ M. Brosche, Dissertation, Techn. Hochschule München 1964.

¹² H. van Oene, private Mitteilung. (Darin befindet sich ein Hinweis, daß Dextrane möglicherweise eine helixförmige Struktur haben.)

an den C-Atomen 2 und 4 (außer an den Endgruppen) abgesättigt sind. Der $\text{—O} \cdots \text{H—O}$ -Abstand dieser Wasserstoffbrücken ist etwa $2,8 \text{ \AA}$, in guter Übereinstimmung mit dem entsprechenden Abstand in vielen Beispielen. Eine Wendeldrehung hat in der Achse eine Länge von etwa 7 \AA . Die große Zahl der Wasserstoffbrücken im Molekül bedingt eine hohe Stabilität der Helix.

Es muß angenommen werden, daß die Ausbildung der Helix-Struktur sicher nur im Zusammenhang mit dem Synthesemechanismus möglich ist.

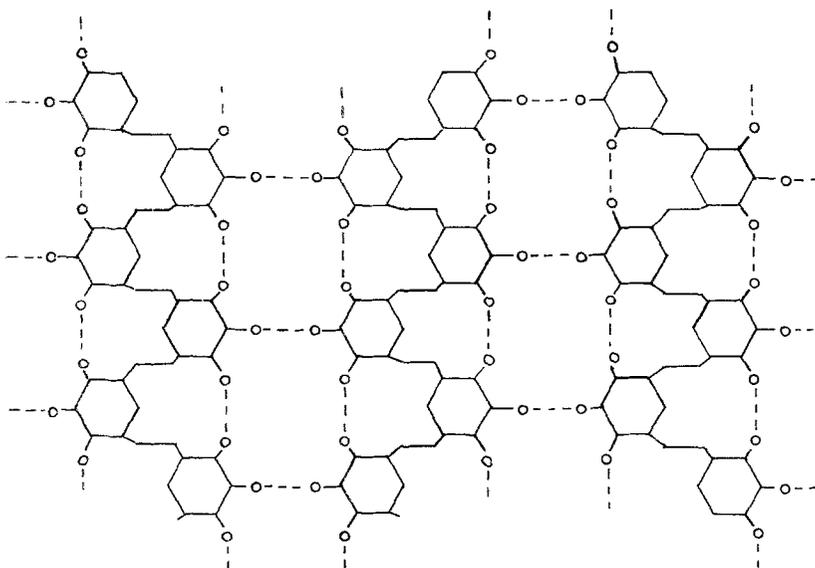


Abb. 2. Schematische Darstellung der „Übergeordneten Struktur“

Diese Vorstellung stimmt sehr gut mit der von uns früher gemachten Annahme überein, daß die wachsende Polymerkette im Reaktionskomplex über mehrere Kettenglieder am Enzym gebunden ist¹³. So wird bei der enzymatischen Aufbaureaktion nicht nur die Anknüpfung der neuen Kettenglieder an die wachsende Kette vorgenommen, sondern auch die Wasserstoffbrücken zwischen den Kettengliedern hergestellt und damit die Helix-Konformation gebildet. Es ist wahrscheinlich, daß in gewissen Bezirken des Moleküls die Helix-Struktur unterbrochen ist und ungeordnete Teile von der Länge einiger Monomere existieren, so daß das Gesamtmolekül an diesen Stellen durch deren hohe Flexibilität Knicke hat. Vielleicht befinden sich sogar in diesen Bezirken bevorzugt die Verzweigungen.

Innerhalb der geordneten helixförmigen Bezirke sind die restlichen OH-Gruppen am C-Atom 3 in fixen Abständen entlang des Moleküls von etwa

¹³ K. H. Ebert und F. Patat, Z. Naturforsch. **17b**, 738 (1962).

7 Å angeordnet und diese neigen sicherlich dazu, sich mittels Wasserstoffbrücken zu verbinden. So kann es zur Ausbildung von hoch geordneten Assoziaten kommen, die sehr stabil sind, da die daran beteiligten Moleküle an vielen Stellen miteinander verbunden sind (Abb. 2). Man kann wohl annehmen, daß ein Teil dieser OH-Gruppen keine Wasserstoffbrücken bilden wird, z. B. weil die gegenüberliegende Wendel schon zu Ende ist. Die Zahl dieser freien OH-Gruppen reicht offensichtlich aus, um die Assoziante, deren geordnete Bezirke in der Größe der Wellenlänge des sichtbaren Lichts sind, in Lösung zu halten.

Der Einfluß der Konformation auf die Lösungseigenschaften

Mit diesem Modell der Konformation der nativen Dextrane in Lösung können die meisten Eigenschaften dieser Lösungen plausibel erklärt werden. Im nativen Zustand haben die Dextrane einen überwiegenden Anteil an helixförmiger Struktur, der zur Assoziatbildung neigt, die eine Trübung hervorruft. Diese Erscheinung tritt offenbar schon bei sehr kleinen Konzentrationen auf und ist der Grund dafür, daß Messungen der Molekulargewichte von nativen Dextranen leicht zu falschen Ergebnissen führen, worauf wir bereits früher hingewiesen haben². Bei der Behandlung von nativen trüben Dextranlösungen mit Ultraschall oder Säure werden zuerst die intermolekularen Wasserstoffbrücken zerstört; das führt zu einer Abschwächung der Trübung, ohne daß das echte Molekulargewicht der Dextrane zunächst merklich verkleinert wird. Für diese Vorstellung sprechen zwei experimentelle Befunde. Bestrahlt man 50 ml einer 2proz. Dextranlösung eine Minute mit Ultraschall (20 kHz), so nimmt die Trübung auf ein Drittel des ursprünglichen Wertes ab. Läßt man die Lösung stehen, so nimmt die Trübung langsam wieder zu. Diesen Vorgang kann man durch Temperaturerhöhung stark beschleunigen, so daß bei 100° C die Trübung wieder fast auf die Hälfte des ursprünglichen Wertes angestiegen ist. Berechnet man nun die Energie, die dem System durch die kurzzeitige Ultraschallbehandlung zugeführt wurde, so ergibt sich, daß selbst bei 100proz. Kopplung und Ausnutzung der Energie das Molekulargewicht der Dextrane von anfänglich 300000 auf höchstens 150000 verkleinert werden konnte. Sicherlich ist aber die Energieausnutzung wesentlich kleiner, so daß eine merkliche Verkleinerung des Molekulargewichtes bei so kurzer Ultraschallbehandlung nicht stattgefunden haben kann.

Ist einmal die Helix-Struktur zerstört, so bildet sie sich nicht mehr von selbst zurück, da zur Bildung einer stabilen Helix jeder Saccharidkern gleichzeitig an den O-Atomen der C-Atome 2 und 4 reagieren müßte, und daß das bei allen Kettengliedern gleichzeitig geschieht, ist statistisch beliebig unwahrscheinlich. Eine Helix-Struktur ist danach bei Dextranen nur durch die enzymatische Bildungsreaktion zu erhalten. Das stimmt

mit unserer Erfahrung überein, daß in Lösungen, in denen die Trübung vollständig beseitigt wurde, keine Rückbildung der Trübung — auch nicht teilweise — beobachtet wurde.

Man könnte dann aber fragen, wie in den nativen Dextranen mit Helix-Struktur die Endglieder stabilisiert sind. Möglicherweise sind die Helices nur dann stabil, wenn die Endglieder durch Assoziatbildung am C-Atom 3 fixiert sind. Vielleicht ist das auch der Grund dafür, daß die flexiblen Bezirke dann vornehmlich am Ende der Dextranmoleküle und am Rande der Assoziate zu suchen wären. Denkbar wäre, daß diese dann — ähnlich wie die Netzmittel bei einer kolloiden Lösung — in das Lösungsmittel hineinreichen und die Assoziate so in Lösung halten. Falls diese einem bakteriellen Abbau den Mikroorganismen leichter zugänglich sind, hätte man eine Erklärung dafür, daß sich bei solchen Abbaureaktionen vorübergehend Dextranniederschläge bilden.

Dextrane, bei denen die Helix-Struktur zerstört wurde, haben deshalb eine wesentlich bessere Löslichkeit als native Dextrane, weil sie eine viel größere Zahl von freien OH-Gruppen besitzen, die Wechselwirkungen mit den Lösungsmittelmolekülen eingehen. Gelegentlich wird es zur Ausbildung von inter- und intramolekularen Wasserstoffbrücken kommen; ihr Anteil wird aber wesentlich kleiner sein als bei den geordneten Strukturen, und die sich so bildenden Assoziate werden so wenig strukturiert sein, daß es zu keiner Trübung kommt. Der Zusammenhalt dieser lockeren Assoziate ist aber doch noch stark, da bei Änderungen des Systems, wie es z. B. beim Verdünnen der Lösung geschieht, eine gewisse Verzögerung der Gleichgewichtseinstellung vorhanden ist, die zu temporären Inhomogenitäten in der Lösung führen kann, wie wir das öfters experimentell gefunden haben.

Auch die Anomalitäten der Viskosität und die Trübung der nativen Dextranlösungen sind auf einfache Weise mit unserem Modell erklärbar. So sind nicht mehr die Molekulargewichte der Dextrane für die Viskosität und die Lichtstreuung verantwortlich, sondern der Anteil der geordneten Strukturen und die Größe und Art der Assoziate. Man kann sich vorstellen, daß der Anteil von Helix-Struktur in Dextranen, die von verschiedenen Enzympräparationen aufgebaut wurden, verschieden groß sein kann. Das Enzym ist stets nur über die Wirkung definiert, andere Faktoren bleiben meist außer Betracht.

Ebenso können die Effekte im Rotationsviskosimeter erklärt werden, wenn man annimmt, daß beim Vorliegen von Assoziaten ein Zustand, der der angelegten Scherkraft entspricht, nur in relativ langen Versuchszeiten erreicht werden kann, und zwar über Verschiebungen der Assoziate gegeneinander und Umordnungen innerhalb derselben, die summiert ein Einpendeln der inneren Spannungen in den Gleichgewichtswert der Viskosität ergeben.

Die Trübung und die spezifischen Viskositäten ändern sich innerhalb des Temperaturbereichs zwischen 15 und 40° C praktisch nicht. Der gleiche Befund wurde auch im Rotationsviskosimeter beobachtet, worauf schon weiter oben hingewiesen wurde. Daraus kann man schließen, daß das Assoziationsgleichgewicht der Gl. (1) von der Temperatur praktisch unabhängig ist; das bedeutet aber, daß die Reaktionsenthalpie der Assoziatbildung sehr klein ist. Gerade das würde man für eine Reaktion erwarten, bei der — wie in unserem Fall — solvatisierte Hydroxylgruppen zu Wasserstoffbrücken reagieren. Das bedeutet aber, daß die Assoziatbildung eine Reaktion ist, die hauptsächlich durch entropische Effekte bedingt ist. Dies ist in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Untersuchungen an Reaktionen, bei denen Wasserstoffbrücken gespalten oder gebildet werden (Dimerisierungen, Umsolvatisierungen usw.).

Es braucht nicht näher begründet zu werden, daß beim Vorliegen der übergeordneten Strukturen es sicherlich nicht möglich ist, die Molekulargewichtsverteilung nach der *Baker-Williams*schen Methode zu bestimmen, wie auch alle anderen Methoden versagen müssen, die auf Löslichkeitsunterschieden von Molekülen verschiedenen Molekulargewichts beruhen. Umgekehrt könnte man diese Methode verwenden, um die Anteile von Dextranen zu bestimmen, die nicht helixförmig gebaut sind, daher auch nicht an den übergeordneten Strukturen teilhaben. Eine Auswertung einer großen Anzahl von Fraktionierungen, die in den letzten Jahren hier gemacht wurden, ergab, daß stets solche Anteile vorhanden sind, daß aber über Zusammenhänge zwischen diesen Anteilen und anderen Reaktionsparametern nichts gesagt werden kann.

Endlich könnte man mit dem Helix-Modell erklären, warum die Seitenketten bevorzugt mit den C-Atomen 3 der Saccharidringe an die Hauptkette angeknüpft sind. Einmal befinden sich die freien OH-Gruppen hauptsächlich an den C-Atomen 3, zum anderen sprechen auch sterische Gründe dafür. Wie am Modell ersichtlich ist, liegen die OH-Gruppen am C-Atom 3 völlig frei und bieten sich in viel stärkerem Maße als die OH-Gruppen an den C-Atomen 2 und 4 zu einer Verknüpfung an, die in einem Enzym-Reaktionskomplex erfolgt¹³.

Es ist in unserem Fall nicht möglich, die Helix-Struktur durch einen „Helix-Coil-Übergang“ mit optischen Methoden direkt nachzuweisen, da die nativen Dextranlösungen dazu viel zu trübe sind. So bleibt uns nichts anderes übrig, als andere Methoden zu finden, die auf solche Strukturunterschiede ansprechen, auch wenn sie nur Hinweise dafür geben können. In dieser Richtung setzen wir unsere Bemühungen fort und hoffen, zu gegebener Zeit weiter darüber berichten zu können.

Herrn Dr. G. Schenk und Herrn Dr. J. Klein danke ich für viele anregende Diskussionen.